



H Z

⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 60 889 A 1**

⑤ Int. Cl.⁷:
G 01 N 1/42

A B

⑳ Aktenzeichen: 100 60 889.2
㉔ Anmeldetag: 7. 12. 2000
㉕ Offenlegungstag: 27. 6. 2002

DE 100 60 889 A 1

㉗ **Anmelder:**
Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der
angewandten Forschung e.V., 80636 München, DE

㉘ **Vertreter:**
v. Bezold & Sozien, 80799 München

㉚ **Erfinder:**
Fuhr, Günter, Prof. Dr., 13187 Berlin, DE; Hagedorn,
Rolf, Dr., 13057 Berlin, DE; Zimmermann, Heiko, Dr.,
66386 St. Ingbert, DE

⑤⑥ **Entgegenhaltungen:**

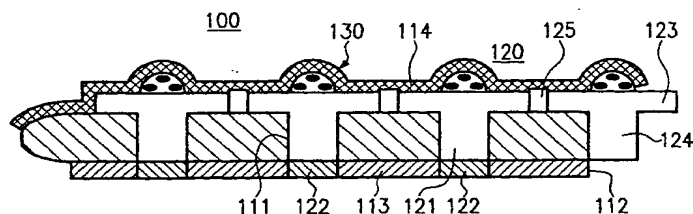
DE	198 41 554 A1
DE	198 38 232 A1
DE	197 36 470 A1
DE	197 16 913 A1
US	59 21 102 A
US	55 61 556 A
US	52 33 844 A
US	49 69 336
EP	03 47 579 A2

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ **Verfahren und Vorrichtung zur Kryospeicherung**

⑤⑦ Bei einem Verfahren zur Kryokonservierung werden auf einem Speichersubstrat mindestens eine Probe angeordnet und positionsspezifisch Probandaten, die für Merkmale der Probe charakteristisch sind, gespeichert. Es wird auch ein Speichersubstrat zur Kryokonservierung mit einem derartigen Verfahren beschrieben.



DE 100 60 889 A 1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft Verfahren zur Kryospeicherung von Proben, insbesondere zur Herstellung, Lagerung und Manipulierung biologischer Proben im kryokonservierten oder aufgetauten Zustand, wie z. B. ein Kryospeicherverfahren für biologische Zellen. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zum Schreiben und Lesen von Daten. Die Erfindung betrifft weiterhin eine Vorrichtung zur Kryospeicherung von Proben, insbesondere ein Speichersubstrat für biologische Proben, wie z. B. Zellen, eine Vorrichtung zum Schreiben und Lesen von Daten in Speichermedien und eine Kryobanksystem. Die Erfindung betrifft auch Anwendungen der Kryokonservierung biologischer Proben.

[0002] Die Kryokonservierung ist ein allgemein bekanntes Verfahren zur Haltbarmachung insbesondere biologisch oder medizinisch relevanter Materialien. Diese Materialien umfassen bspw. Gewebe und Organe, Körperflüssigkeiten oder auch einzelne Zellen oder Zellbestandteile. Die Kryokonservierung erfolgt nach bestimmten Prozeduren in Behältern oder auf Substraten, deren Gestalt an das Material oder Probe angepasst ist. Behälter zur Kryokonservierung sind bspw. für Gewebe und Organe (siehe DE-OS 199 22 31, EP-A 0 853 238, DE-OS 197 25 768, DE-OS 199 05 163), für Blutkomponenten (siehe z. B. DE-OS 198 26 350) und für zell- oder tropfenförmige Kryoproben (siehe z. B. US-A-5 275 016, EP-B 0 475 409, DE-OS 199 21 236, EP-B 0 804 073) bekannt.

[0003] Ein generelles Anliegen bei der Kryokonservierung biologischer Proben besteht in der Identifizierbarkeit der Proben. Kryokonservierte Proben müssen in Bezug auf ihre Herkunft und Eigenschaften mit hoher Sicherheit identifizierbar sein, ohne dass ein Auftauen erforderlich ist. Bei den makroskopischen Kryoproben ist dies kein Problem, da Organ- oder Blutbehälter mit einer Beschriftung versehen werden können. Das Auffinden der Kryoproben erfolgt in Abhängigkeit vom Ablagesystem der jeweiligen Kryobank.

[0004] Bei kleinen Kryoproben in Form von gefrorenen Suspensionstropfen, Zellen, Zellaggregaten oder Zellbestandteilen ist die Identifizierung der Kryoproben erheblich problematischer. Eine Kryoprobe wäre gegenüber der Beschriftung vernachlässigbar klein. Oft besteht ein Interesse an der Kryokonservierung einer Vielzahl mikroskopisch kleiner Proben. Die Lagerung und Identifizierung von kleinen Kryoproben mit Beschriftung wäre unpraktikabel. Des Weiteren liegen die kryokonservierten Zellproben bei herkömmlichen Konservierungstechniken, die auf dem Aufsprühen von Zellsuspensionen auf gekühlte Oberflächen (siehe z. B. EP-B 0 475 409), in einem ungeordneten Zustand vor. Es können lediglich größere Menge von Einzelproben unspezifisch gemeinsam konserviert werden.

[0005] Bei den in EP-B 0 804 073 und DE-OS 199 21 236 beschriebenen Konservierungstechniken ist eine geordnete Ablage und spezifische Bearbeitung selbst kleinster Proben auf Kryosubstraten möglich. Die Probenablage erfolgt bspw. unter Verwendung einer Mikrotropfenschusseneinrichtung, die auf der Grundlage bestimmter Zielkoordinaten angesteuert wird. Die Proben befinden sich auf definierten Substratpositionen, an denen auch eine spezifische Vermessung von Probeneigenschaften und Identifizierung der Proben ermöglicht wird. Das Substrat kann mit einer Markierung versehen sein, um die Probenpositionen auf dem Substrat zu definieren. Beispielsweise wird in DE-OS 199 21 236 für die matrixartige Ablage von Kryoproben in geraden Zeilen und Spalten vorgeschlagen, das Substrat mit einer Bezeichnung der Spalten und Zeilen zu versehen. Diese Markierungstechnik ist in Fig. 17 (Stand der Technik) illustriert.

[0006] Die herkömmliche Markierung von Kryosubstraten gemäß Fig. 17 besitzt die folgenden Nachteile. Es wird zwar die Identifizierung von Proben ermöglicht, damit wird aber lediglich eine Positionsinformation gegeben. Der beschränkte Informationsgehalt der Substratmarkierung stellt jedoch ein Problem dar, da neben der Probenidentifizierung auch zusätzliche Daten, z. B. über die Beschaffenheit oder die Vorgeschichte der Probe oder über Messergebnisse verfügbar sein sollen. Diese Daten könnten zwar in einer parallel betriebenen Datenbank gespeichert werden. Der getrennte Betrieb von Kryo- und Datenbanken stellt aber ein erhebliches Risiko für die Sicherheit der Merkmalszuordnung zu den einzelnen Proben dar. Dieses Risiko ist insbesondere bei humanmedizinischen Anwendungen kritisch, da eine Probenverwechslung den Erfolg einer weiteren Verwendung der Kryoprobe vereiteln kann. Außerdem besitzt die Substratmarkierung den Nachteil, dass eine Probenidentifizierung nur im Verbund mit dem Kryosubstrat möglich ist. Wenn einen Probenentnahme erfolgt, wie es bspw. in DE-OS 199 21 236 beschrieben wird, kann nach Trennung vom Kryosubstrat eine Probenidentifizierung nur durch eine aufwendige Messung von Probeneigenschaften im aufgetauten Zustand erfolgen.

[0007] Aus DE-OS 197 52 085 ist ein Probenträger für mikroskopische Untersuchungen an einer Vielzahl von Proben bekannt. Der herkömmliche Probenträger wird durch ein in Fig. 18 (Stand der Technik) in schematischer Draufsicht gezeigtes Substrat mit einer Vielzahl von Probeaufnahme-räumen gebildet. Das Substrat besitzt bspw. die Form eines Plattenspeichers (z. B. CD). Zwischen einem in der Substratmitte befindlichen Durchgangsloch und den matrixartig angeordneten Probeaufnahme-räumen ist ein Ringbereich gebildet. Aus DE-OS 197 52 085 ist bekannt, diesen Ringbereich zu Speicherung von Probendaten auszugestalten. Der herkömmliche Probenträger besitzt den Nachteil, lediglich zur Aufnahme von flüssigen Proben und nicht für die Kryokonservierung ausgelegt zu sein. Außerdem stellt die Speicherung von Probendaten auf dem Innenring die selben Nachteile dar, wie die o. g. Substratmarkierung. Es können zwar mehr Daten gespeichert werden, die Zuordnung zu den einzelnen Proben ist jedoch nicht fehlerfrei möglich.

[0008] Neben den genannten Nachteilen der herkömmlichen Techniken gibt es des Weiteren den folgenden Grund für die bisher gering entwickelte Anwendung der Kryokonservierung insbesondere in der zellulären Biotechnologie. Wenn ein direktes Einfrieren biologischer Proben in einer flüssigen Kühlphase (z. B. Stickstoff) erfolgt, besteht ein Kontaminationsrisiko. Über die Kühlphase können Viren auf die Proben übertragen werden. Um dieses Risiko zu vermeiden, muss der Kontakt mit der flüssigen Phase vermieden oder für eine dichte Abdeckung der Proben gesorgt werden. Dies ist bisher jedoch nicht in praktikabler Weise realisiert worden.

[0009] Die Aufgabe der Erfindung ist es, ein verbessertes Verfahren zur Kryokonservierung bereitzustellen, mit dem die Nachteile der herkömmlichen Techniken überwunden werden, das einen erweiterten Anwendungsbereich besitzt und insbesondere für automatisierte Konservierungsanlagen geeignet ist. Das neue Verfahren zur Kryokonservierung soll insbesondere ermöglichen, dass Probendaten in größerem Umfang und mit erhöhter Datensicherheit (d. h. mit erhöhter Sicherheit der Zuordnung von Probendaten zu bestimmten Proben) den Proben zugeordnet werden. Die Erfindung soll auch eine hochspezifische Datenzuordnung zu einzelnen Kryoproben ermöglichen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, Vorrichtungen zur Umsetzung derart verbesserter Kryokonservierungsverfahren anzugeben.

[0010] Diese Aufgaben werden mit Verfahren oder Vor-

richtungen mit den Merkmalen gemäß den Patentansprüchen 1, 11, 18 und 19 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

[0011] Die Grundidee der Erfindung ist es, mindestens eine Probe auf einem Substrat anzuordnen und auf dem Substrat eine Speicherung von Probanddaten vorzunehmen, die für Merkmale der Kryoprobe charakteristisch sind. Die Speicherung der Probanddaten erfolgt positionsspezifisch in einem Probandatenspeicher vorzugsweise an der Ablageposition der jeweiligen Probe. Durch die Ablage von Proben und Probanddaten an gemeinsamen oder eng benachbarten oder aneinandergrenzenden Positionen des Substrates werden eine Reihe von Vorteilen erzielt. Die Probanddaten sind durch ihre Ablageposition eindeutig den jeweiligen Proben zugeordnet. Eine Verwechslung der Probenzuordnung wird ausgeschlossen. Bei Entnahme von Proben können simultan am Ablageort die zugehörigen Daten abgelesen oder mit dem Speichermedium vom Substrat entfernt, so dass auch nach der Probenabnahme bei der weiteren Verarbeitung die Identifizierung der Probe und die Zuordnung der Probanddaten sichergestellt ist. Es kann eine Entnahme von einzelnen Proben bei beliebigen Temperaturen, insbesondere auch im gefrorenen Zustand, erfolgen.

[0012] Anwendungsabhängig können die Probenablage und die Datenspeicherung bei Raumtemperatur mit anschließender Abkühlung zur jeweils erforderlichen Konservierungstemperatur oder auch im gekühlten Zustand erfolgen. Die Erfinder haben überraschenderweise festgestellt, dass sowohl ein Schreiben als auch ein Lesen von Daten in oder aus an sich bekannten Speichermedien (z. B. optische Speicher, magnetische Speicher, elektromagnetische Speicher) selbst bei Konservierungstemperaturen unterhalb des Gefrierpunktes des Wassers möglich sind. Die Probandatensätze sind in allen Phasen eines Kryokonservierungsvorganges zuverlässig lesbar.

[0013] Besondere Vorteile besitzt die Erfindung bei der Ablage einer Vielzahl von Proben auf einem gemeinsamen Substrat mit einer positionsspezifischen Speicherung einer Vielzahl von Probandatensätzen. Das Substrat dient gleichzeitig als Kryosubstrat mit Probenträgern zur Aufnahme, Halterung und Freigabe von Kryoprobe und als Datenträger, der wie ein für die Computertechnik bekanntes Speichermedium eine Vielzahl von Daten an den Substratpositionen entsprechend den jeweiligen Proben speichert. Die Proben werden z. B. tropfenweise und zueinander isoliert als Zellsuspensionstropfen auf die Probenträger des Kryosubstrates aufgebracht. Jedem Probenträger ist ein Probandatenspeicher zugeordnet, in dem zugehörige Daten abgelegt werden. Die gleichzeitige Ablage von Proben und Probanddaten erfolgt langfristig stabil und verwechslungssicher. Die erfindungsgemäße Kryokonservierung wird wegen der Analogie zur elektronischen Datenspeicherung hier als Kryospeicherung bezeichnet.

[0014] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Kryospeicherung auf einem Speichersubstrat, bei dem jeweils ein Probenträger und ein Probandatenspeicher ein integrales Bauteil bilden, dass reversibel oder irreversibel vom Substrat lösbar ist. Gegenstand der Erfindung ist auch ein Kryospeicherelement, das einen Probenträger zur Aufnahme einer Kryoprobe und einen Probandatenspeicher zur Ablage zugehöriger Probanddaten umfasst. Ein erfindungsgemäßes Speichersubstrat wird durch einen Grundkörper, der vorzugsweise eine flächige Gestalt besitzt, mit einer Vielzahl von Kryospeicherelementen gebildet. Das Speichersubstrat kann anwendungsabhängig eine beliebige 2- oder 3-dimensionale geometrische Form besitzen. Gemäß bevorzugter Ausführungsformen der Erfindung hat der

Grundkörper des Speichersubstrates die Gestalt einer optischen Speicherplatte (CD-Rom), in die die Kryospeicherelemente integriert sind, oder mindestens einer Leiterplatte, auf der die Kryospeicherelemente wie elektrische Schaltkreise (Chips) aufgesetzt sind.

[0015] Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Betreiben einer Kryobank mit einer Vielzahl von Speichersubstraten. Auf mindestens einem Speichersubstrat werden eine Vielzahl von Proben abgelegt, die bspw. zu einem Organismus (Probanden) gehören. Die Proben umfassen bspw. spezifische Zellen, des Probanden (z. B. Stammzellen, Gewebezellen). Die Ablage der Proben erfolgt zunächst gemeinsam mit den probenspezifischen Daten, insbesondere Daten zur Identifizierung der Art der Proben und des Probanden, des Konservierungszeitpunktes und der zum Zeitpunkt der Konservierung vorliegenden Messdaten. Im Verlauf des Betriebes der Kryobank werden Proben gemeinsam mit den zugehörigen Probanddaten für Messzwecke, diagnostische Aufgaben oder therapeutische Verfahren entnommen und/oder weitere Proben oder Probanddaten ergänzt. Die Probanddaten umfassen allgemein alle Merkmale und Parameter der Proben und des Probenspenders und ggf. Zusatzinformationen zur Datenablage auf dem Speichersubstrat.

[0016] Durch die folgenden vorteilhaften Merkmale der erfindungsgemäßen Kryospeicherung werden die Nachteile herkömmlicher planarer oder dreidimensionaler Substrate überwunden. Die Proben (z. B. eingefrorenen Zellsuspensionsvolumina) sind zu jedem Zeitpunkt spezifisch zugänglich. Dies gilt auch für den Tieftemperaturzustand. Es können an definierten Substratpositionen kleinste Probenvolumina angeordnet werden, die charakteristische Dimensionen im mm-Bereich oder darunter, vorzugsweise jedoch typische Größen von $10^3 \mu\text{m}^3$ ($10 \cdot 10 \cdot 10 \mu\text{m}^3$) bis zu einigen 10 nm^3 besitzen. Die Proben können bspw. eine oder eine Vielzahl von Zellen (10^5 bis 10^6 Zellen), Zellbestandteile, biologisch relevante Objekte (wie z. B. Membranvesikeln, DNA-Materialien, Makromoleküle) und/oder Zellverbände enthalten.

[0017] Die Proben können selektiv im tiefgeköhlten Zustand des Speichersubstrates entnommen werden, ohne dass die Kühlung der übrigen Proben unterbrochen wird. Zur Probenabnahme und zum Datenauslesen ist kein Auftauen des gesamten Speichersubstrates erforderlich.

[0018] Die Probanddaten können automatisch computergestützt geschrieben oder gelesen werden. Die Zuordnung von Probandatenspeichern und Probenträgern ist eindeutig. Die Proben werden verwechslungssicher abgelegt. Die Zuordnung entnommener Proben zu den Probanddaten und auch zum Speichersubstrat bleibt erhalten, so dass die Historie einer Probe rekapituliert werden kann. Dies stellt einen besonderen Vorteil bei medizinischen Anwendungen der Erfindung dar.

[0019] Erfindungsgemäße Speichersubstrate besitzen eine hohe mechanische Stabilität und Langzeithaltbarkeit. Die erfindungsgemäße Kryospeicherung ermöglicht erstmalig eine sichere Ablage von biologischen Proben über Jahrzehnte. Eine Kryobank kann über die gesamte Lebensdauer eines Probanden, z. B. für die Dauer eines Menschenalters, zuverlässig betrieben werden. Das Speichersubstrat besitzt einen relativ einfachen Aufbau, der einen massenhaften Einsatz von Speichersubstraten in Kryobanken ermöglicht.

[0020] Die Erfindung besitzt auch Vorteile in Bezug auf das genannte Kontaminationsrisiko. Die erfindungsgemäßen Speichersubstrate ermöglichen eine Reihe von unten erläuterten Maßnahmen, mit denen verhindert wird, dass ein flüssiges Kühlmedium direkt mit den Proben in Verbindung kommt. Ein virale Kontamination über die Kühlphase wird

vermieden. Es wird auch der Niederschlag von Wasser oder anderen Substanzen auf den Proben ausgeschlossen.

[0021] Ein weiterer wichtiger Vorteil erfindungsgemäßer Speichersubstrate besteht darin, dass die abgelegten Proben im kryokonservierten oder aufgetauten Zustand den üblichen Mess- und Analysemethoden (z. B. optische Messungen, mikroskopische Beobachtungen) bei gleichzeitiger Lesbarkeit der Datensätze zugänglich sind. Die Daten in den Probandatenspeichern werden auch bei mehrmaligen Einfrier- oder Auftauvorgängen aufrechterhalten.

[0022] Die Kryospeicherung erfolgt bei anwendungsabhängig gewählten Konservierungsbedingungen. Die Temperatur der Kryospeicherung und der zeitliche Ablauf von Temperaturabsenkung oder -steigerungen werden in Abhängigkeit von der Konservierungsaufgabe und dem Material gewählt. Die Konservierungstemperatur liegt im Bereich unterhalb der Raumtemperatur, vorzugsweise unterhalb des Gefrierpunktes von Wasser bei Normaldruck und bei den bevorzugten Langzeitanwendungen unterhalb von -80°C . Die Kryotemperatur wird vorzugsweise durch ein flüssiges Kühlmedium (Stickstoff) oder den Dampf des Kühlmediums eingestellt.

[0023] Die Erfindung besitzt den Vorteil, dass kleinste Proben volumina kryokonserviert werden. Dies ermöglicht schnelle Temperaturänderungen, reproduzierbare Konservierungsbedingungen und eine individuelle Probenhandhabung, -behandlung oder -messung.

[0024] Weitere Vorteile und Einzelheiten der Erfindung werden im Folgenden unter Bezug auf die beigelegten Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

[0025] Fig. 1 eine schematische Schnittansicht eines Teils eines erfindungsgemäßen Speichersubstrates gemäß einer ersten Ausführungsform der Erfindung,

[0026] Fig. 2 eine schematische Illustration der Probenentnahme von einem Speichersubstrat gemäß Fig. 1,

[0027] Fig. 3 bis 7 schematische Draufsichten auf verschiedenen Gestaltungen von Proben- und Speicheranordnungen auf einem Speichersubstrat,

[0028] Fig. 8 eine schematische Schnittansicht eines Teils eines Speichersubstrates gemäß einer zweiten Ausführungsform der Erfindung,

[0029] Fig. 9 schematische Ansichten verschiedener geometrischer Anordnungen von Kryospeicherelementen,

[0030] Fig. 10 eine schematische Schnittansicht eines Teils eines Speichersubstrates gemäß einer dritten Ausführungsform der Erfindung,

[0031] Fig. 11 eine Illustration der Entnahme von Kryospeicherelementen aus einem erfindungsgemäßen Speichersubstrat gemäß einer vierten Ausführungsform der Erfindung,

[0032] Fig. 12 eine schematische Illustration einer folienförmigen Abdeckung an einem erfindungsgemäßen Speichersubstrat,

[0033] Fig. 13 eine schematische Schnittansicht eines Teils eines Speichersubstrates gemäß einer fünften Ausführungsform der Erfindung,

[0034] Fig. 14 schematische Perspektivansichten von Speichersubstraten gemäß einer sechsten Ausführungsform der Erfindung,

[0035] Fig. 15 eine schematische Perspektivansicht eines Kryospeicherelementes des Speichersubstrates gemäß Fig. 14, und

[0036] Fig. 16 eine schematische Perspektivansicht einer Abwandlung des Kryospeicherelementes gemäß Fig. 15,

[0037] Fig. 17 und 18 Draufsichten herkömmlicher Probenträger (Stand der Technik).

[0038] Bei der in Fig. 1 dargestellten ersten Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Speichersubstrates 100 ist

ein Grundkörper 110 vorgesehen, der eine Vielzahl von Kryospeicherelementen 120 trägt. Der Grundkörper 110 (ausschnittsweise dargestellt) besitzt typische Dimensionen wie z. B. eine optische lesbare/beschreibbare Speicherplatte (im Folgenden: CD). Zur Aufnahme der Kryospeicherelemente 120 besitzt der Grundkörper 110 Durchtrittsöffnungen 111, in denen die Kryospeicherelemente in Art einer Presspassung sitzen. Auf einer Seite des Grundkörpers 110 ist ein schichtförmiges Speichermedium 112 angeordnet. Das Speichermedium 112 ist eine Datenschicht, wie sie von herkömmlichen CD's bekannt und zum Schreiben und Lesen von Daten geeignet ist. Das Speichermedium 112 ist vorzugsweise zum optischen Schreiben ("Brennen") und Lesen der Daten ausgelegt. Es kann aber auch ein magnetisches oder ein topographisches Speichermedium vorgesehen sein. Auf dem Speichermedium 112 ist ggf. eine Schutzschicht vorgesehen (nicht dargestellt).

[0039] Das Speichermedium 112 umfasst Schichtbereiche, die auf dem Grundkörper 110 aufliegen und als Basispeicher 113 dienen, und Bereiche, die zu den Kryospeicherelementen 120 gehören und als Probandatenspeicher 122 dienen. Die Basispeicher 113 und Probandatenspeicher 122 können zunächst eine geschlossene Schicht des Speichermediums 112 bilden, die nach Probenentnahmen (siehe Fig. 2) ggf. unterbrochen wird. Der Basispeicher 113 enthält vorzugsweise Substratdaten, die sich bspw. auf die Art der Anordnung der Kryospeicherelemente und die Identifizierung des Substrates beziehen. Die Probandatenspeicher 122 enthalten Probandaten (siehe unten).

[0040] Die Kryospeicherelemente 120 bestehen jeweils aus einem Probenträger 121 und dem Probandatenspeicher 122. Der Probenträger 121 ist ein Formteil aus Kunststoff mit einer T- oder teller-/pilzförmigen Gestalt. Der Probenträger kann anstelle von Kunststoff auch aus einem biokompatiblen und inerten Material (z. B. Halbleitermaterial) bestehen. Der Probenträger 121 umfasst eine plattenförmige Probenaufnahme 123 und einen Trägerstift 124. Die innere Form der Durchtrittsöffnungen 111 und die äußere Form des Trägerstifts 124 sind zur Bildung einer Presspassung aufeinander abgestimmt. Zwischen den Rändern der Probenaufnahmen 123 sind Abstände 125 gebildet. Die Abstände 125 verringern das Risiko einer gegenseitigen Kontamination zwischen den Proben. Außerdem vereinfachen sie die Entnahme von Kryospeicherelementen. Mit den Trägerstiften 124 ist jeweils ein Probandatenspeicher 122 fest verbunden.

[0041] Auf den Probenaufnahmen 123 befinden sich die Kryoproben 130, insbesondere in Form von gefrorenen Flüssigkeitstropfen. Die Tropfen sind Zellsuspensionen oder auch Referenzproben, z. B. mit Mustern von Kultivierungsmedien, Lösungen von Markierungsfarbstoffen oder Sondenproben. Sondenproben sind Referenzproben, die Substanzen enthalten, die auf eine Änderung kritischer Umgebungsbedingungen empfindlich reagieren. Als Sondenproben können bspw. chemische Verbindungen verwendet werden, die empfindlich gegenüber radioaktiver Strahlung oder unerwünschten Temperaturerhöhungen sind. Eine Kontrolle der Sondenproben ermöglicht eine Überprüfung des Lagerungszustandes des Speichersubstrates in einer Kryobank.

[0042] Über den Kryoproben 130 ist eine Abdeckfolie 114 angeordnet, die der Vermeidung von Kontaminationen aus dem Kühlmedium oder aus der sonstigen Umgebung dient.

[0043] Typische Dimensionen der Probenaufnahmen 123 sind bspw. 0.1 bis 3 mm. Die Gesamtdicke des Speichersubstrates 100 beträgt bspw. rd. 2 mm.

[0044] Zur erfindungsgemäßen Kryospeicherung von Proben wird ein den Kryoproben und ggf. Referenzproben beschickt. Die Beschickung erfolgt bspw. mit einer Mikrotropfen-

fenscusscheinrichtung, wie es in EP-B 0 804 073 beschrieben ist. Die Proben werden als Mikrotropfen im gekühlten Zustand des Speichersubstrates 100 gezielt auf die Probenaufnahmen 123 aufgeschossen, wo sie beim Auftreffen festfrieren. Ebenfalls im tiefgeköhlten Zustand des Speichersubstrates 100 erfolgt ein Einschreiben (Einbrennen) erster Probandaten in die Probandatenspeicher 122. Nach Beschickung des Substrates erfolgt die Aufbringung der Abdeckfolie 114 und die Einbringung des Speichersubstrates 100 in eine Halterung unter den jeweiligen Kühlbedingungen des verwendeten Kryokonservierungssystems.

[0045] In Fig. 2 ist die Entnahme von Proben vom Speichersubstrat 100 illustriert. Erfindungsgemäß erfolgt die Probenentnahme durch Abtrennen des jeweiligen Kryospeicherelementes 120 vom Grundkörper 110. Das Abtrennen erfolgt mit einer Stanzeinrichtung 140 in Zusammenarbeit mit einer Stempeleinrichtung 150. Die Stanzeinrichtung besitzt ein hohles Schneidwerkzeug 141, dessen Schneide 142 an die äußere Form der Probenaufnahme 123 angepasst ist. Das Stanzwerkzeug kann bspw. durch eine Hohlkapillare mit einem angeschliffenen Ende gebildet werden. Die Stempeleinrichtung 150 besitzt einen Stempel 151, mit dem der Probandatenspeicher 122 vom übrigen Speichermedium 112 abgetrennt und der Trägerstift 124 aus der Durchtrittsöffnung 111 herausgedrückt werden kann. Am Ende des Stempels 151 ist ggf. auch ein Schneidwerkzeug zur verbesserten Durchtrennung des Speichermediums 112 vorgesehen. Die Stanz- und Stempeleinrichtungen 140, 150 können zur Aufrechterhaltung einer bestimmten Temperatur des Speichersubstrates 100 aktiv oder passiv gekühlt sein.

[0046] Fig. 2 zeigt einen besonderen Vorteil der Erfindung. Mit der Stanzeinrichtung 140 wird die Probe 130 mit dem Kryospeicherelement 120 entnommen, ohne dass andere Probandepots geöffnet werden. Die Probe 130 ist auch nach der Entnahme mit dem Probandatenspeicher 122 verbunden. Es kann eine Übertragung der Probe auf ein anderes Speichersubstrat und/oder eine Messeinrichtung unter Kryobedingungen oder bei erhöhter Temperatur erfolgen. Eine Ergänzung von Probandaten, z. B. in Abhängigkeit von einem Messergebnis, wird am Probandatenspeicher 122 vorgenommen (Datenakkumulation).

[0047] Die Fig. 3 bis 7 illustrieren erfindungsgemäße Speichersubstrate (z. B. gemäß Fig. 1) in schematischer Draufsicht. Ein Speichersubstrat 100 ist wie eine herkömmliche CD geformt und besitzt insbesondere in der Mitte eine Durchtrittsöffnung 101 zur Anbringung des Speichersubstrates in der Kryokonservierungsvorrichtung und/oder einem Lese-/Schreibsystem. Die Probenaufnahmen 123 der Probenträger sind bei dieser Ausführungsform rechteckig gebildet. Sie besitzen typische Dflächendimensionen von rd. 0.1 bis 30 mm². Die Probenaufnahmen 123 sind gruppenweise in Sektoren 102 angeordnet. Bei Entnahme von Proben mit den jeweiligen Kryospeicherelementen bleibt der Grundkörper 110 mit den freien Durchtrittsöffnungen 111 zurück.

[0048] Fig. 4 zeigt eine abgewandelte Ausführungsform mit kreisförmigen Probenaufnahmen 123. Auf jeder Probenaufnahme 123 kann ein Tropfen mit einem Volumen von einigen mm³ abgelegt werden. Jeder Tropfen kann bis zu 10⁵ Zellen enthalten. Auf dem gesamten Speichersubstrat mit einem Durchmesser von ca. 12 cm können damit bis zu 10⁸ Zellen abgelegt werden.

[0049] Fig. 5 zeigt eine abgewandelte Gestaltung mit kreisförmigen Probenaufnahme 123, die im Vergleich zu Fig. 4 kleinere Durchmesser besitzen (z. B. 0.01 bis 1 mm). Die Gesamtzahl der Kryospeicherelemente auf dem Speichersubstrat 100 wird dadurch erhöht. Die Variabilität bei der Probenentnahme steigt.

[0050] Die in Fig. 1 illustrierten Basisspeicher 113 können auch selektiv entsprechend bestimmter Bahnen im Speichermedium angeordnet sein. Dies ist in den Fig. 6 (ringsförmige Speicherbahnen) und 7 (strahlförmig ausgerichtete Speicherbahnen) illustriert. Mit den Basisspeichern 113 erfolgt eine zusätzliche Fragmentierung des Speichersubstrates.

[0051] Fig. 8 illustriert ausschnittsweise eine abgewandelte Form eines Speichersubstrates 200 mit einem Grundkörper 210, der durch die Probenträger 221 der Kryospeicherelemente gebildet wird. Die Probenträger 221 besitzen auf einer Seite die Probandatenspeicher 222 und auf der entgegengesetzten Seite die Probenaufnahmen 223. Die Probenträger 221 sind Formteile, z. B. aus Kunststoff oder einem Halbleitermaterial, in denen die Probenaufnahmen 223 als Ausnehmungen gebildet sind. Die Probenträger 221 sind über Sollbruchstellen 224 miteinander verbunden. Die Probandatenspeicher 222 bilden eine auf der Unterseite des Grundkörpers 210 angeordnete Schicht des Speichermediums.

[0052] Auf der Oberseite des Speichersubstrates ist eine Abdeckfolie 214 vorgesehen, mit der die Proben 230 abgedeckt werden. Die Abdeckfolie 214 umgreift den Grundkörper 210 an seiner Außenkante mit einem umlaufenden Vorsprung 215.

[0053] Die Verwendung des Speichersubstrates 200 insbesondere die Beschickung und die Datenspeicherung erfolgen nach den oben erläuterten Prinzipien. Zur Probenentnahme werden Kryospeicherelemente 220 jeweils mit einem Träger 221 und einem Probandatenspeicher 222 mit einem geeigneten Werkzeug vom Speichersubstrat 200 getrennt (z. B. herausgebrochen, abgeschnitten oder dergleichen). Anwendungsabhängig sind die Sollbruchstellen 224 mit einer bestimmten Geometrie ausgeführt, wie dies in Fig. 9 illustriert ist.

[0054] In Fig. 9 bezeichnen die weißen Linien den Verlauf der Sollbruchstellen 224. In den jeweils umrahmten schwarzen Bereichen befinden sich die Probenträger insbesondere mit den Probenaufnahmen. Die Probenaufnahmen können innerhalb des Speichersubstrates 200 verschiedenen Geometrien besitzen, z. B. nach innen hin enger (linkes Teilbild) oder schmäler werden (rechtes Teilbild).

[0055] Eine dritte Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Speichersubstrates 300 ist in Fig. 10 illustriert. Das Speichersubstrat besitzt einen scheibenförmigen Grundkörper 310 in Form einer ebenen, gleichförmigen Platte. Einfügungen oder Sollbruchstellen sind bei dieser Ausführungsform nicht vorgesehen. Die Kryospeicherelemente 320 bilden bei dieser Gestaltung lediglich eine Einheit, solange die Proben 230 auf dem Speichersubstrat 300 angeordnet sind. Als Probenträger 321 ist für jede Probe eine Probenaufnahmeschicht vorgesehen. Die Probenaufnahmeschicht besteht aus einem Kunststoffmaterial, das eine geringe Haftung zum Grundkörper 310 besitzt (z. B. aus PTFE oder Kautschuk). Die geringe Haftung ist insbesondere im Tieftemperaturbereich gegeben.

[0056] Zur Abtrennung einer Probe 330 wird die Probe mit der Probenaufnahmeschicht mit einem geeigneten Werkzeug vom Grundkörper 310 abgetrennt (z. B. abgehoben, abgehobelt, abgeschoben oder abgezogen). Der Probandatenspeicher 322 verbleibt auf der Substratunterseite.

[0057] Die Proben 330 sind auch bei dieser Ausführungsform mit einer Abdeckung 314 gegen Kontaminationen geschützt. Die Abdeckung 314 wird durch einen Deckel gebildet, der gegenüber dem Grundkörper 310 über eine Ringdichtung 315 abgedichtet ist.

[0058] In Fig. 11 ist im oberen Teilbild in perspektivischer Ansicht ein Ausschnitt eines Speichersubstrates 400 gemäß

einer weiteren Ausführungsform der Erfindung dargestellt. Bei diesem Speichersubstrat sind die Kryospeicherelemente 420 in Form einer Vorperforation oder einer Presspassung im Grundkörper 410 vorgesehen. Der Grundkörper 410 und die Kryospeicherelemente 420 bilden eine ebene Platte, auf deren Unterseite das Speichermedium 412 schichtförmig angeordnet ist. Das Speichermedium 412 (Datenträgerfolie) kann ebenfalls vorperforiert sein und befindet sich auf der Unterseite des Grundkörpers 410 mit der zum optischen Ein- und Auslesen von Daten erforderlichen Planarität.

[0059] Im unteren Teilbild von Fig. 11 ist das Kryospeicherelement 420 vergrößert dargestellt. Auf der Oberseite des Grundkörpers 410, der hier den Probenträger 421 bildet, ist als Probenaufnahme 423 eine Ausnehmung vorgesehen. In der Probenaufnahme ist die Kryoprobe 430 (z. B. Suspensionstropfen) angeordnet. Mit der Abdeckfolie 414 ist die Probe 430 gegen Kontamination geschützt. Auch an der Abdeckfolie 414 können Perforationen entsprechend der äußeren Form des Kryospeicherelements 420 vorgesehen sein. Erfindungsgemäß kann allgemein die Abdeckung oder Abdeckfolie auch als Speichermedium gebildet sein. Bei Entnahme des Kryospeicherelements 420 aus dem Speichersubstrat 400 mit einem analog zur Illustration in Fig. 2 aufgebauten Werkzeug wird die Probe 430 mit dem Probenträger 421, dem Probendatenspeicher 422 und dem Ausschnitt der Abdeckfolie 414 entnommen. Das Speichersubstrat 400 wird in einer Halterung fixiert und mit dem passgenauen Stempel 451 (ggf. mit Schneide 452) und der Stanzeinrichtung 440 vom Grundkörper 410 getrennt. Die Stanzeinrichtung 440 ist mit einem beweglichen Stempel 441 versehen, der nach Abtrennung des Kryospeicherelements 420 dieses aus der Stanzeinrichtung herausdrückt.

[0060] Fig. 12 zeigt eine gegenüber Fig. 11 abgewandelte Ausführungsform am Beispiel eines einzelnen Kryospeicherelements 420 mit dem Probenträger 421 und der Probenaufnahme 423. Bei dieser Gestaltung ist die Abdeckung 414 durch eine zweischichtige Folie gebildet. Auf dem Probenträger 421 liegt eine poröse Schicht 415 als Abdeckung auf. Darüber befindet sich eine dichte Schicht 416 mit einer aus der Substratebene abstehenden Verlängerung 417. Die Verlängerung 417 kann manuell oder mit einem entsprechenden Werkzeug vom Substrat weggezogen werden. Dabei wird die untere Schicht 415 am Probenträger 421 freigelegt. Diese Prozedur kann im tiefgefrorenen oder auch im aufgetauten Zustand erfolgen. Die Probenaufnahme 423 wird zeitweilig teilweise geöffnet. Es kann ein rascher Austausch der Flüssigkeit in der Probenaufnahme 423 erfolgen. Es können bspw. Kryoprotektive aus der Zellsuspension ausgewaschen werden.

[0061] Die Abdeckung 414 kann auch Daten oder Markierungen zur Identifizierung der Probe enthalten. Gemäß abgewandelten Gestaltungen kann ein aus weiteren Schichten gebildeter Aufbau der Abdeckung 414 vorgesehen sein.

[0062] Das Prinzip der mehrschichtigen Abdeckung ist auch in Fig. 13 am Beispiel einer weiteren Ausführungsform der Erfindung gezeigt. Da Speichersubstrat 500 umfasst wiederum einen Grundkörper 510 mit pilzförmigen Vorsprüngen 511, auf denen die Probenträger 521 sitzen. Die Probenträger 521 sind Formteile jeweils mit einer Probenaufnahme 523 auf der Oberseite und einer Fixierausnehmung 524 auf der Unterseite. Die Fixierausnehmungen 524 und die Vorsprünge 511 wirken wie Druckknöpfe als lösbare mechanische Verbindungen zusammen. Auf der zu den Probenträgern 521 entgegengesetzten Seite befindet sich als Speichermedium 512 eine Datenträgerschicht, die die Probendatenspeicher 522 bildet, die den jeweiligen Probenträgern 521 zugeordnet sind. Die Abdeckung 514 erfolgt nach dem Doppelschichtprinzip, das in Fig. 12 illustriert ist.

[0063] Zur Entnahme eines Probenträgers 521 im gefrorenen Zustand des Speichersubstrates 500 wird ein hobel- oder keilförmiges Werkzeug unter den Probenträger 521 geschoben. Mit dem Werkzeug wird die Verbindung zwischen dem jeweiligen Vorsprung 511 und der Fixierausnehmung 524 gelöst. Die Probe wird damit mit dem Probenträger 521 und Teilen der Abdeckung 514 vom Speichersubstrat 500 abgetrennt. Auch bei dieser Ausführungsform geht bei der Abtrennung die Verbindung zum Probendatenspeicher 522 verloren. Allerdings können Probendaten auch im entsprechenden Teil der Abdeckung 514 vorgesehen sein.

[0064] Die in den Fig. 14 bis 16 dargestellten Ausführungsformen der Erfindung zeichnen sich dadurch aus, dass Speichersubstrat 600 durch mindestens eine Leiterplatte 610, die dem Grundkörper entspricht und mindestens ein auf die Leiterplatte 610 aufgesetztes Kryospeicherelement 620 gebildet wird. Die Leiterplatte 610 trägt elektrische (Leiterbahnen) oder optische (Lichtleiterfasern) Verbindungen 611, die jeweils eine Aufnahmefassung 612 zur Aufnahme von einem Kryospeicherelement mit einer externen (nicht dargestellten) Steuereinrichtung verbinden. Die Aufnahmefassung entspricht im Wesentlichen dem Sockel einer herkömmlichen Schaltkreisfassung, in dem die Kontakte des Kryospeicherelements (siehe Fig. 15) eingesetzt werden. An den Aufnahmefassungen 612 können zusätzlich jeweils Schaltkreise zur Signalanpassung, Signalumsetzung oder Detektion der auf den Verbindungsleitungen 611 Signale oder von auf optischem Wege strahlend gelieferten Datensignalen vorgesehen sein.

[0065] Die Verbindungsleitungen 611 können auf der Oberseite der Leiterplatte 610 mit den Aufnahmefassungen 612 (oberes Teilbild von Fig. 14) oder auf der entgegengesetzten Seite (unteres Teilbild von Fig. 14) vorgesehen sein. Im letzteren Fall könne die Aufnahmefassungen 612 dichter angeordnet werden. Das untere Teilbild von Fig. 14 zeigt ferner, dass auf der Leiterplatte 610 auch ein Rechnerschaltkreis 613 zur Ansteuerung der Kryospeicherelemente, ggf. mit einem gesonderten RAM-Speicher, vorgesehen sein kann.

[0066] Jede Aufnahmefassung 612 ist zur Aufnahme eines Kryospeicherelements 620 eingerichtet, dessen Einzelheiten in Fig. 15 gezeigt sind. Das Kryospeicherelement 620 umfasst analog zu den oben erläuterten Funktionen einen Probenträger 621, der mit dem Probendatenspeicher 622 verbunden ist. Gemäß einer besonders vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung wird das Kryospeicherelement durch einen an sich bekannten integrierten Schaltkreis gebildet. Der Schaltkreis enthält als Probendatenspeicher 622 mindestens einen RAM-Speicher. Der Probenträger 621 ist beispielsweise in der Kunststoffabdeckung des integrierten Schaltkreises gebildet. Die Probenaufnahme 623 ist eine Ausnehmung in der Kunststoffabdeckung. Bei einem herkömmlichen Chip mit einer Größe von 7 · 14 mm kann die Probenaufnahme 623 eine Grundfläche von ca. 4 · 10 mm bei einer Tiefe von 1 mm besitzen. Bei diesen Maßen können im Kryospeicherelement 620 bis zu fünf Millionen Zellen untergebracht werden.

[0067] Das Kryospeicherelement 620 kann auch einen kompletten Rechnerschaltkreis enthalten, mit dem die Funktion des Kryospeicherelements verwaltet wird und über den das Kryospeicherelement nach außen kommuniziert.

[0068] Auf dem Boden der Probenaufnahme 623 können zusätzliche Steuereinrichtungen zur Manipulierung der Probe Sensor- und/oder Anzeigeeinrichtungen 624 vorgesehen sein. Die Steuereinrichtungen umfassen ggf. Kühl- und Heizelemente, z. B. Peltier-Elemente, Widerstandsheizelemente, zur gesteuerten Abkühlung oder Erwärmung der Probe oder Materialien mit erhöhter Wärmekapazität zur

Reduzierung der Wärmebelastung der Probe während eines Chiptransportes. Als Anzeigeeinrichtung kann eine Lichtquelle vorgesehen sein, die bspw. einen bestimmten Zustand des Kryospeicherelements 620 bzw. der Probe signalisiert oder die als Messlichtquelle für Messungen an der Probe 630 dient. Zusätzlich ist das Kryospeicherelement 620 mit einer Abdeckung 614 versehen, die die Probe von Kontamination, Verdunstung und Sublimation schützt. Die Abdeckung 614 ist bspw. eine Plastikkappe, eine aufgeschweißte Folie oder ein anderes schichtförmiges Bauteil, das eine dichte, lösbare Verbindung mit dem Probenträger 621 eingeht.

[0069] Der Probenträger 621 dient auch als Führung für die Kontaktfüße 625 des Kryospeicherelements. Die Kontaktfüße sind insbesondere mit dem Probendatenspeicher 622 und ggf. den Steuer- und Anzeigeeinrichtungen 624 verbunden.

[0070] Im Gegensatz zu den aus der zellulären Biotechnologie bekannten Diagnosechips besteht beim Kryospeicherelement 620 zwischen der Probe 630 und dem Probendatenspeicher 622, den Steuer- und/oder Anzeigeeinrichtungen 624 keine Verbindung, die auf eine Erfassung elektrischer Parameter der in der Probe eingefrorenen Zellen gerichtet ist.

[0071] Die Abdeckung 614 gemäß Fig. 15 kann auch durch einen Kryobehälter 615 gemäß Fig. 16 ersetzt werden. Mit dem Kryobehälter 615 wird die Oberseite des Probenträgers 621 als Gefäß gebildet, das analog zu einem herkömmlichen Kryogefäß aufgebaut ist. Es kann insbesondere ein Deckel 616 mit einer abgedichteten Schraubverbindung zum zylinderförmigen Behälterkörper 617 vorgesehen sein. Der Kryobehälter 615 besteht aus einem kälteresistenten Kunststoffmaterial. Die in Fig. 16 dargestellte Ausführungsform der Erfindung besitzt den Vorteil, dass der Kryobehälter 615 auch manuell, z. B. durch Pipettieren, beschickt werden kann.

[0072] Die in den Fig. 14 bis 16 dargestellte Ausführungsform der Erfindung besitzt eine Reihe von Vorteilen. Das Kryospeicherelement wird durch einen elektronischen Chip gebildet, der als Probendatenspeicher einen elektronisch von außen beschreibbaren und lesbaren Speicher enthält. Eine temperaturabhängige Justage eines Lese-/Schreibkopfes etwa wie bei einem CD-Speicher ist nicht erforderlich. In dem Chip befindet sich mindestens eine Probenaufnahme entsprechend für einen oder mehrere Proben. Der Chip und/oder die Aufnahmefassung können mit einer elektronischen Schaltung zur Ansteuerung zusätzlicher Funktionselemente, Sensoren und/oder Alarmsystemen ausgestattet sein. Der in Fig. 14 gezeigte Aufbau kann als dreidimensionales Mehrerebenen-Kryosubstrat hergestellt werden, bei dem mehrere Leiterplatten 610 mit einer Vielzahl von Kryospeicherelementen übereinander gestapelt werden.

[0073] Die chipförmigen Speicherelemente können problemlos im gefrorenen Zustand von der Leiterplatte entnommen und auf andere Leiterplatten, Messeinrichtungen oder Bearbeitungsstationen übertragen werden, ohne dass die Probendaten verloren gehen. Die Kryospeicherelemente sind von außen elektronisch adressierbar.

[0074] Zusätzlich können zur Mehrfachabsicherung die Kryospeicherelemente mit einer oder mehreren Kennungen, automatisch lesbaren oder visuell kontrollierbaren Farbmarkierungen versehen sein. Die Kryospeicherelemente gemäß Fig. 15 lassen sich gegenüber den Dimensionen herkömmlicher integrierter Schaltkreise auch weiter miniaturisieren. Bei Miniaturisierung wird eine optische Ansteuerung anstelle der elektrischen Kontaktierung bevorzugt.

[0075] Die mindestens eine Leiterplatte eines Speichersubstrates kann mit einem Computer-Bus-System verbun-

den sein, mit dem eine individuelle Abfrage und Ansteuerung der einzelnen Kryospeicherelemente erfolgt. Die in Fig. 15 dargestellte Form von Kryospeicherelementen kann anwendungsabhängig abgewandelt werden (z. B. runde oder mehreckige Probenträger).

[0076] Wichtige Merkmale der Erfindung werden im Folgenden zusammengefasst.

[0077] Erfindungsgemäße Speichersubstrate kombinieren eine Materialaufnahme mit einer probenspezifischen Datenaufnahme. Während der Tieftemperaturlagerung ist die selektive Entnahme von Material (Zellen, Zellsuspensionen) und das Lesen/Ablesen von Daten und/oder Datenmaterial möglich.

[0078] Die Datenidentifizierung wird mehrfach abgesichert, indem die Proben und die Probendatenspeicher an den gleichen oder unmittelbar aneinandergrenzenden Substratpositionen angeordnet sind. Zusätzlich kann das Speichersubstrat gefärbt sein, so dass allein aus der Färbung des Kryospeicherelements und des Grundkörpers festgestellt werden kann, aus welchem Speichersubstrat die jeweilige Probe stammt.

[0079] Die Kryospeicherelemente sind leicht desinfizierbar und wiederverwendbar.

[0080] Es ist ferner möglich, die Grundkörper und Kryospeicherelemente eines Speichersubstrates einheitlich mit einem Farbton oder einem digitalen oder analogen Erkennungsmuster zu versehen, die jederzeit eine eindeutige Zuordnung beider Teile zulässt.

[0081] Dies besitzt Vorteile für eine automatisierbare optische Kontrolle (z. B. Farb- und Codierungserfassung).

[0082] Auf dem erfindungsgemäßen Kryospeicher können erstmals Probendaten in Kilobyte- bis Megabytebereich gespeichert werden. Dies ist insbesondere bei der Speicherung von Messergebnissen von Vorteil.

[0083] Während der Nutzungsdauer eines Speichersubstrates können jederzeit Daten ergänzt werden (Datenakkumulation). Auf diese Weise lassen sich alle an den Proben erworbenen Daten bzw. alle ausgeführten Manipulationen, Messungen, Behandlungen oder dergleichen lückenlos probenspezifisch dokumentieren.

[0084] Es können spezifische Behandlungen der Proben insbesondere in den Chip-förmigen Speicherelementen selektiv mit einer Prozedurprogrammierung und -speicherung durchgeführt werden. Beispielsweise kann im Rahmen einer Kryokonservierung ein bestimmtes Heiz-, Kühl-, Mess-, Kontroll- und Alarm-/Anzeigeprogramm abgearbeitet und im Programmdateispeicher dokumentiert werden. Im gefrorenen Zustand können verschiedene Kryospeicherelemente verschiedene Temperatur- oder Messprogramme durchlaufen. Es kann z. B. lokal ein Auftauen ausgelöst werden, um eine Messung an der Probe durchzuführen.

[0085] Es kann erfindungsgemäß vorgesehen sein, dass das Speichersubstrat mit einer rein elektronischen Datenbank kombiniert betrieben wird, in der die Probendaten des Speichersubstrates gespiegelt abgelegt sind.

[0086] Die Abdeckung der Probenaufnahmen kann teilweise oder vollständig transparent sein. Durch diese Schicht werden optische und andere Messverfahren in die Probenaufnahme eingekoppelt. Beispielsweise können die Proben bildhaft dargestellt werden.

[0087] Es sind Fluoreszenzmessungen, dielektrische Messungen und/oder Ultraschalldarstellungen möglich.

[0088] Eine erfindungsgemäße Kryodatenbank umfasst eine Vielzahl der erläuterten Speichersubstrate, eine Steuereinrichtung und eine Bearbeitungseinrichtung zur Manipulierung der Speichersubstrate und zur Entnahme von Proben.

[0089] Die in der vorstehenden Beschreibung, den An-

sprüchen und den Zeichnungen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausgestaltungen von Bedeutung sein.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Kryokonservierung, bei dem auf einem Speichersubstrat mindestens eine Probe angeordnet und positionsspezifisch Probendaten, die für Merkmale der Probe charakteristisch sind, gespeichert werden. 10
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem die Probendaten auf dem Speichersubstrat an, neben oder unter der Probe gespeichert werden. 15
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem als Probendaten Informationen zur Identifizierung der Probe, Informationen über Substanzmerkmale der Probe, Messergebnisse und/oder Behandlungsschritte gespeichert werden. 20
4. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Probendaten im gekühlten Zustand des Speichersubstrates gelesen und/oder geschrieben werden.
5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem eine Probe vom Substratspeicher in Verbindung mit den gespeicherten Probendaten entnommen und auf ein anderes Substrat oder zu einer Meß- oder Behandlungseinrichtung überführt wird. 25
6. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Probendaten optisch, magnetisch, topographisch oder elektromagnetisch gespeichert werden. 30
7. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Probe eine Suspension von mindestens einer Zelle, Zellbestandteilen, Zellaggregaten und/oder Gewebe umfasst. 35
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, bei der die Probe zusätzlich Referenz- und Sondenproben umfasst.
9. Verfahren gemäß einem der vorgehenden Ansprüche, bei dem an einer gefrorenen, erwärmten oder aufgetauten Probe im gekühlten Zustand des übrigen Speichersubstrats eine Messung und/oder eine Behandlung erfolgt und die Messergebnisse als Probendaten gespeichert werden. 40
10. Verfahren gemäß einem der vorgehenden Ansprüche, bei dem eine Steuerung des Zustandes der Probe auf dem Speichersubstrat mit einem der Probe zugeordneten Rechnerschaltkreis erfolgt. 45
11. Speichersubstrat zur Kryokonservierung mindestens einer Probe, das mindestens ein Kryospeicherelement enthält, das durch einen Probenträger und einen Probendatenspeicher gebildet wird. 50
12. Speichersubstrat gemäß Anspruch 11, bei dem das mindestens eine Kryospeicherelement lösbar in einem Grundkörper des Speichersubstrates angeordnet ist. 55
13. Speichersubstrat gemäß einem der Ansprüche 11 oder 12, bei dem als Kryospeicherelement ein Formteil vorgesehen ist, das die Probe und den Probendatenspeicher trägt. 60
14. Speichersubstrat gemäß einem der Ansprüche 11 oder 12, bei dem als Kryospeicherelement ein integrierter Schaltkreis mit einem Speicher vorgesehen ist, der mit mindestens einem Probenträger zur Aufnahme jeweils einer Probe ausgestattet ist. 65
15. Speichersubstrat gemäß Anspruch 14, bei dem der Probenträger in den Aufbau des integrierten Schaltkreises integriert ist.

16. Speichersubstrat gemäß Anspruch 15, bei dem der Probenträger einen Kryobehälter aufweist.

17. Speichersubstrat gemäß Anspruch 15, bei dem das Kryospeicherelement einen Rechnerschaltkreis enthält, mit dem die Funktion des Kryospeicherelements verwaltet wird und über den das Kryospeicherelement nach außen kommuniziert.

18. Kryospeicherelement, das eine Probenaufnahme für eine Probe und einen Datenspeicher zur Speicherung von Probendaten umfasst.

19. Verfahren zum Betrieb einer Kryobank, bei dem die Proben mit einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9 kryokonserviert und/oder behandelt werden.

Hierzu 13 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

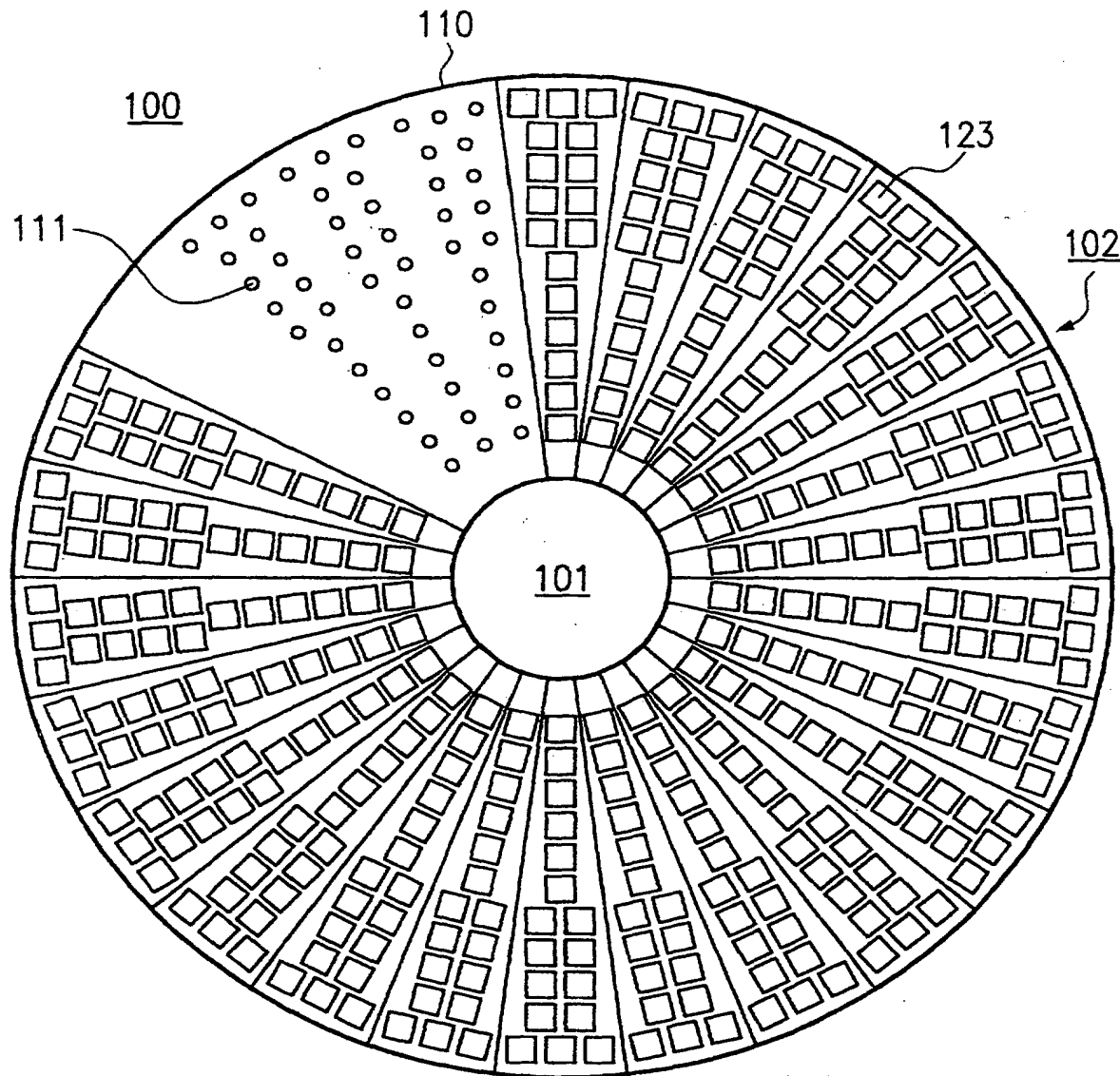


FIG.3

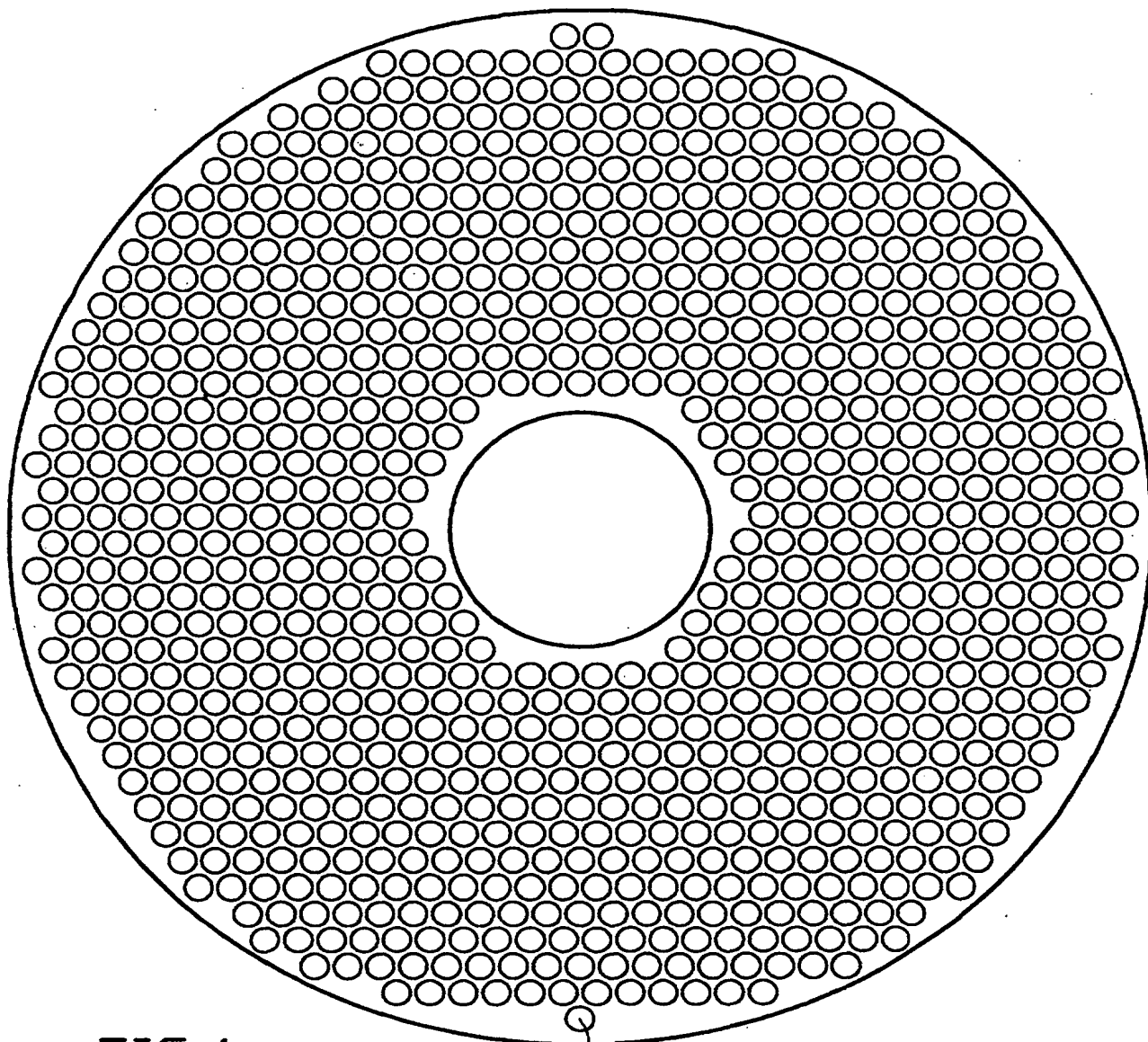


FIG. 4

123

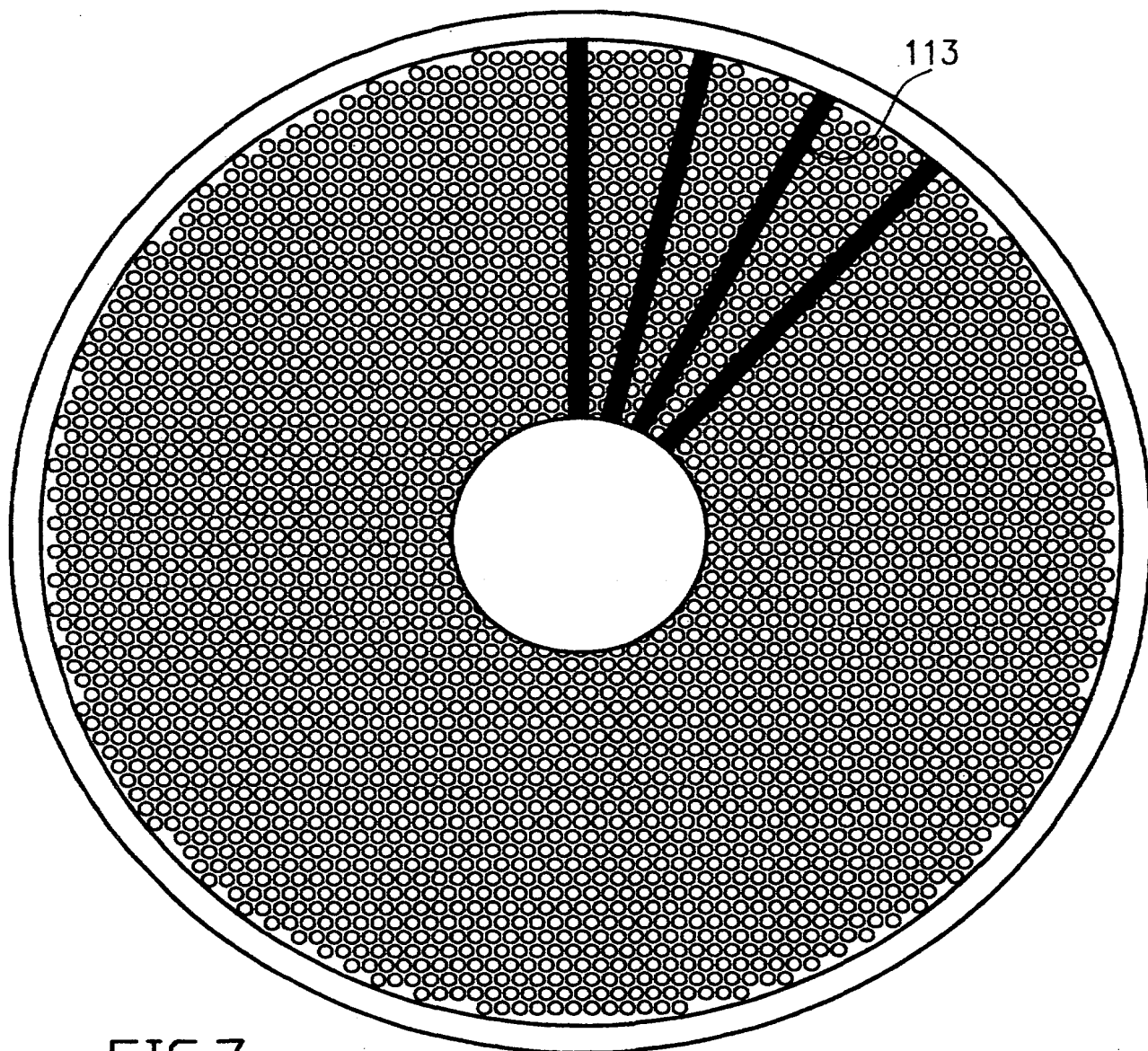


FIG. 7

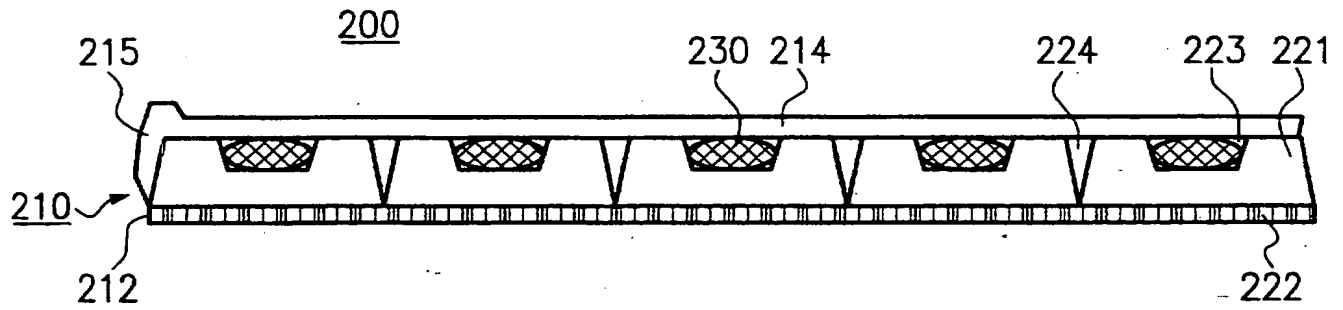


FIG. 8

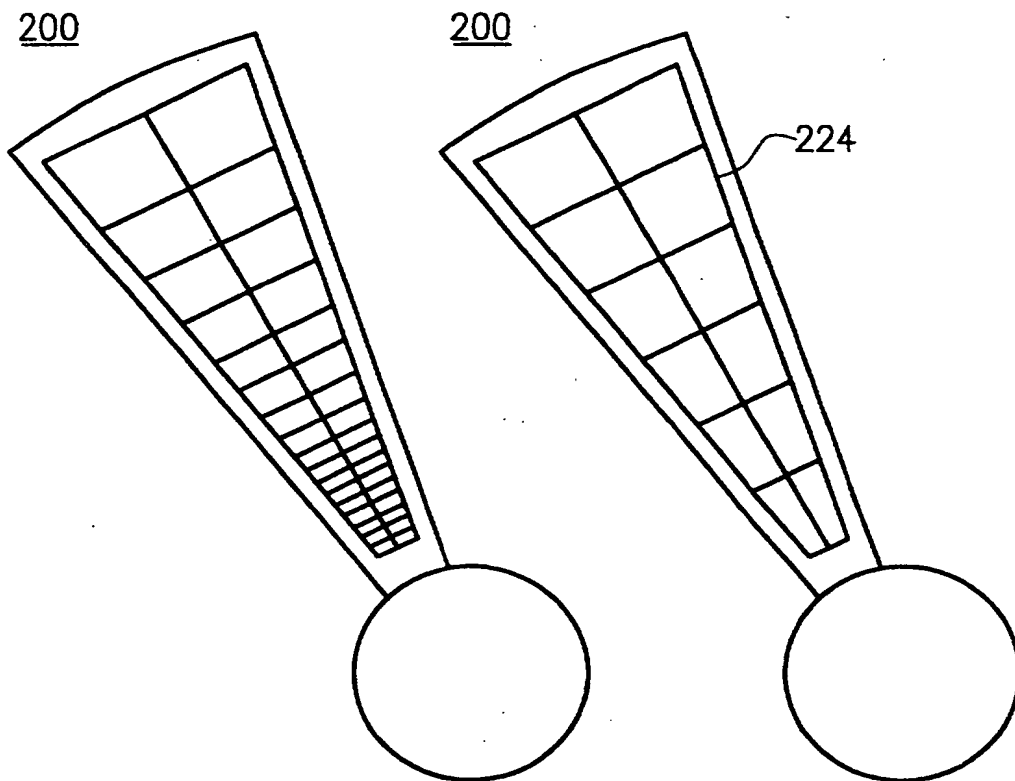


FIG. 9

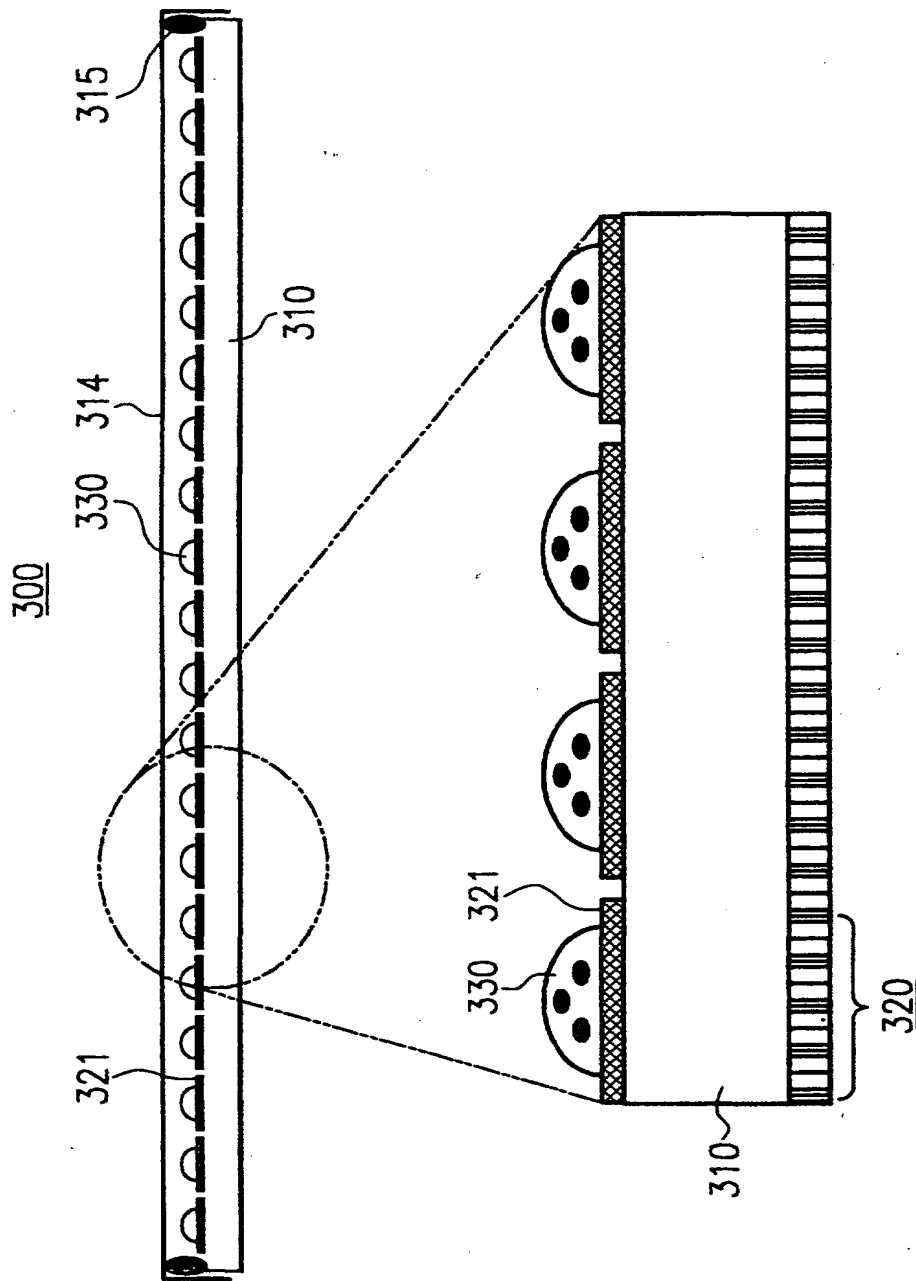
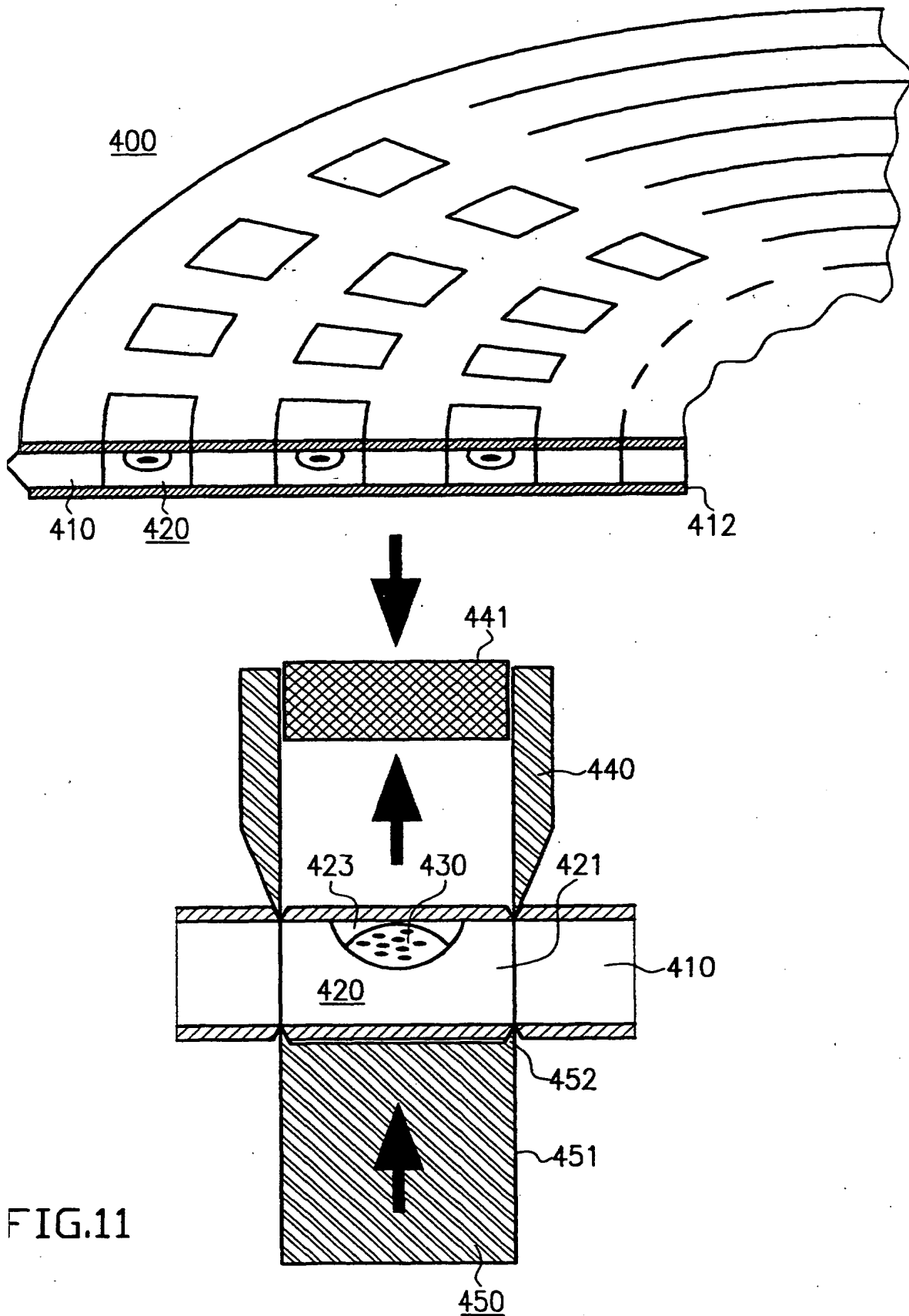


FIG.10



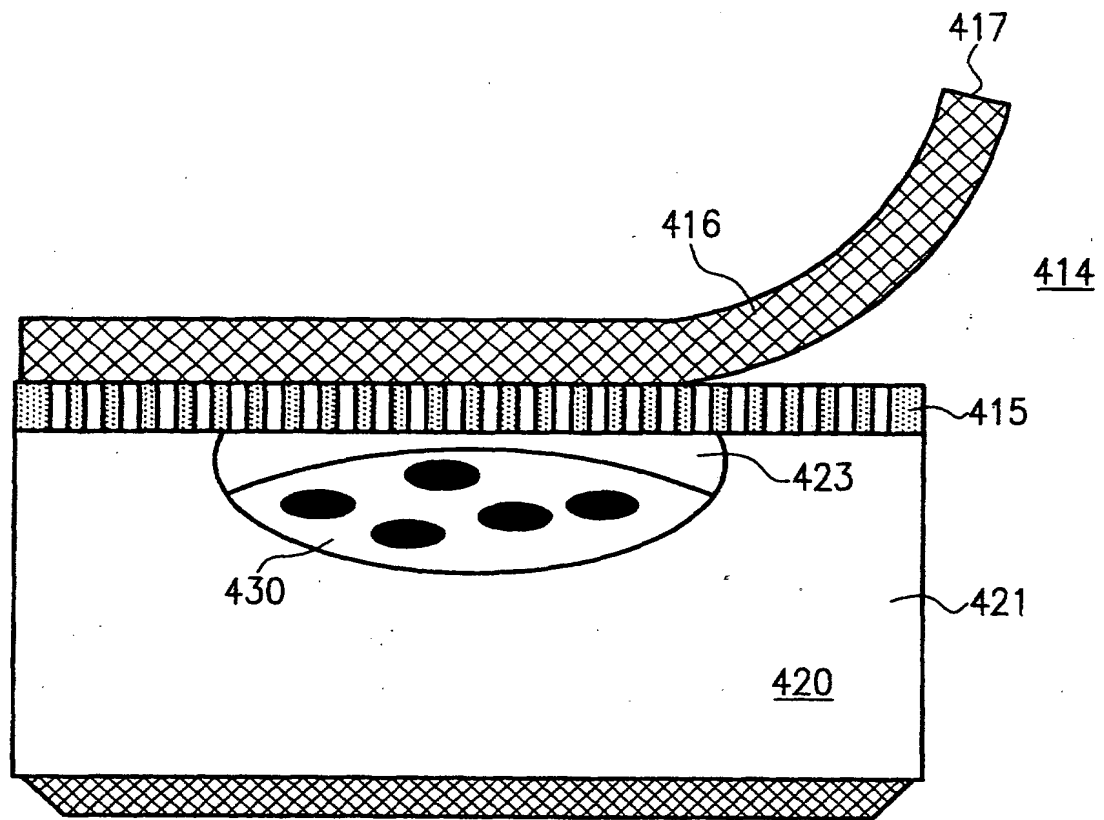


FIG. 12

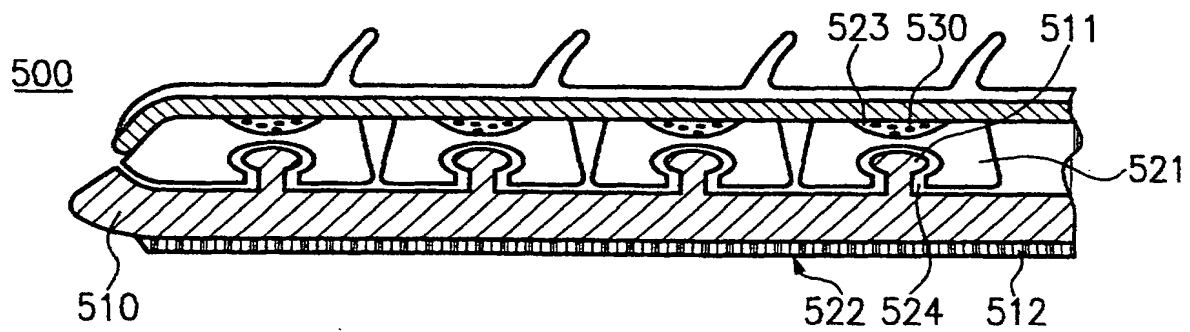


FIG. 13

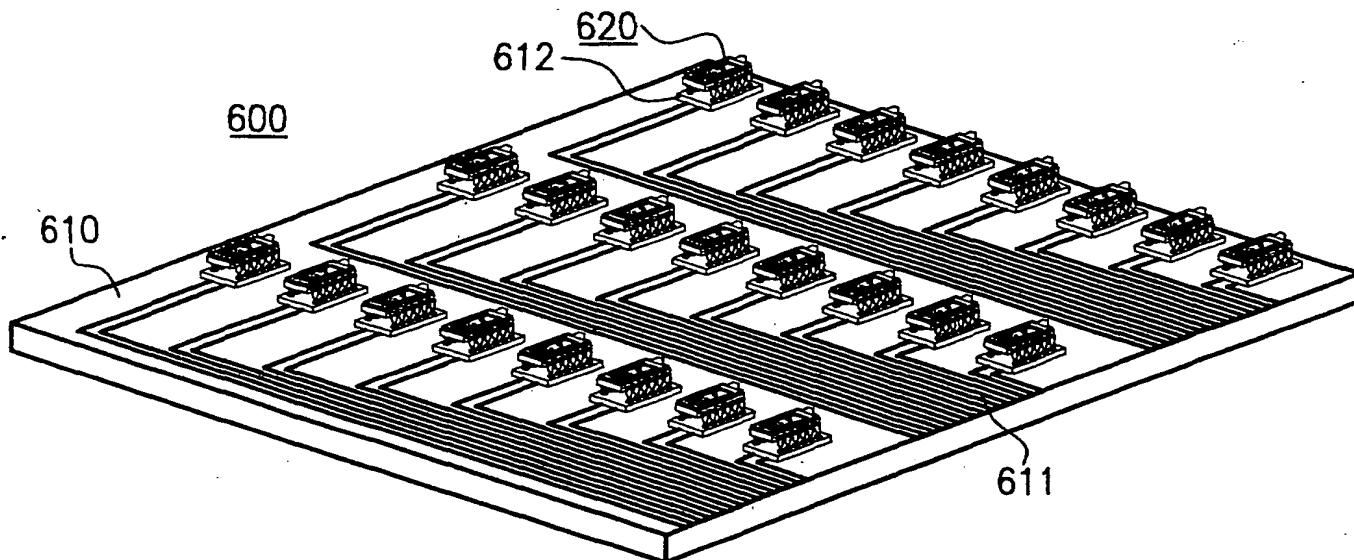
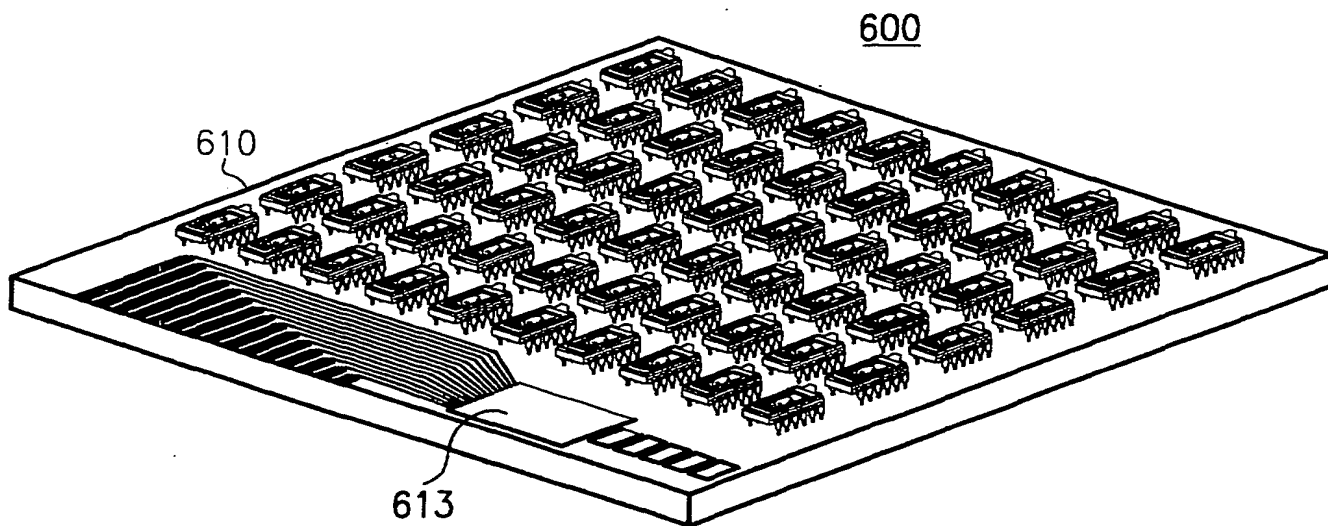


FIG. 14



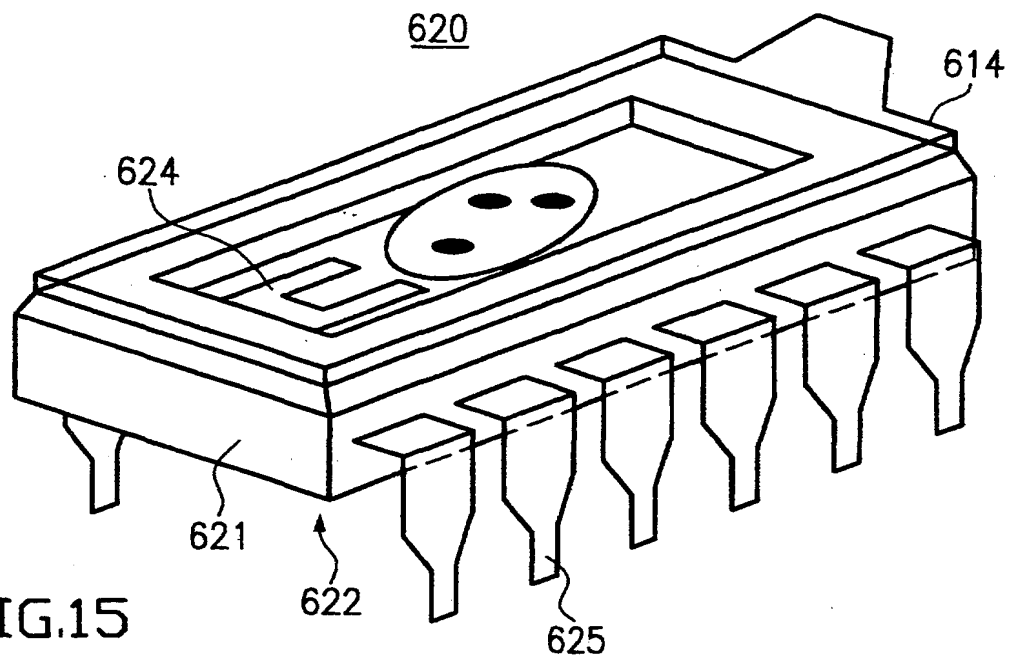


FIG.15

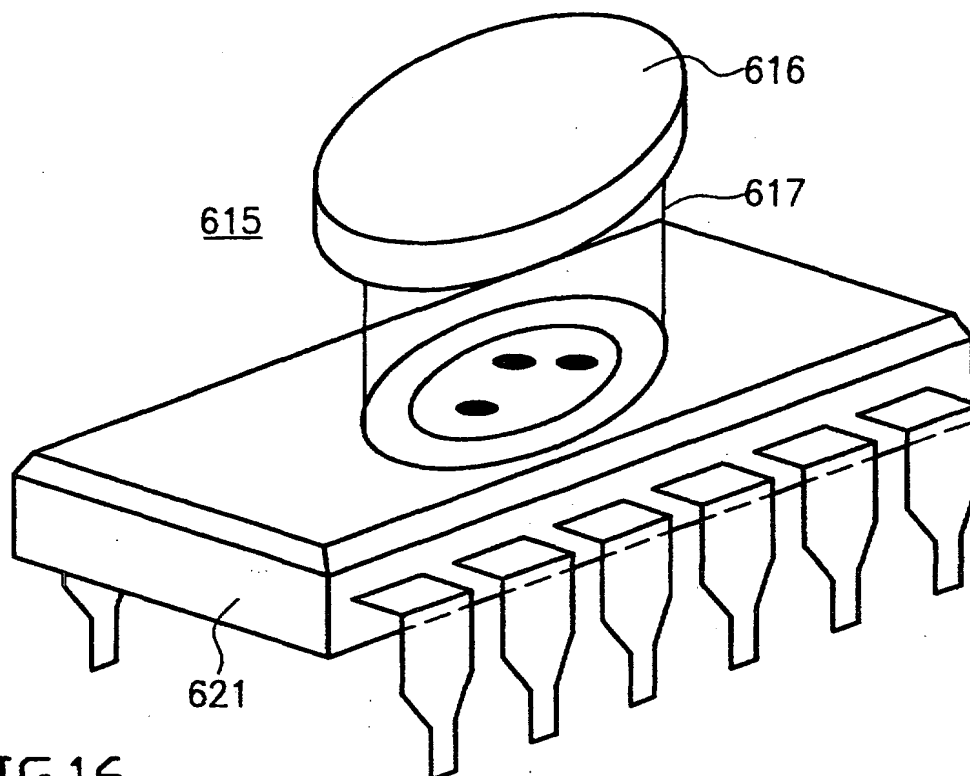


FIG.16

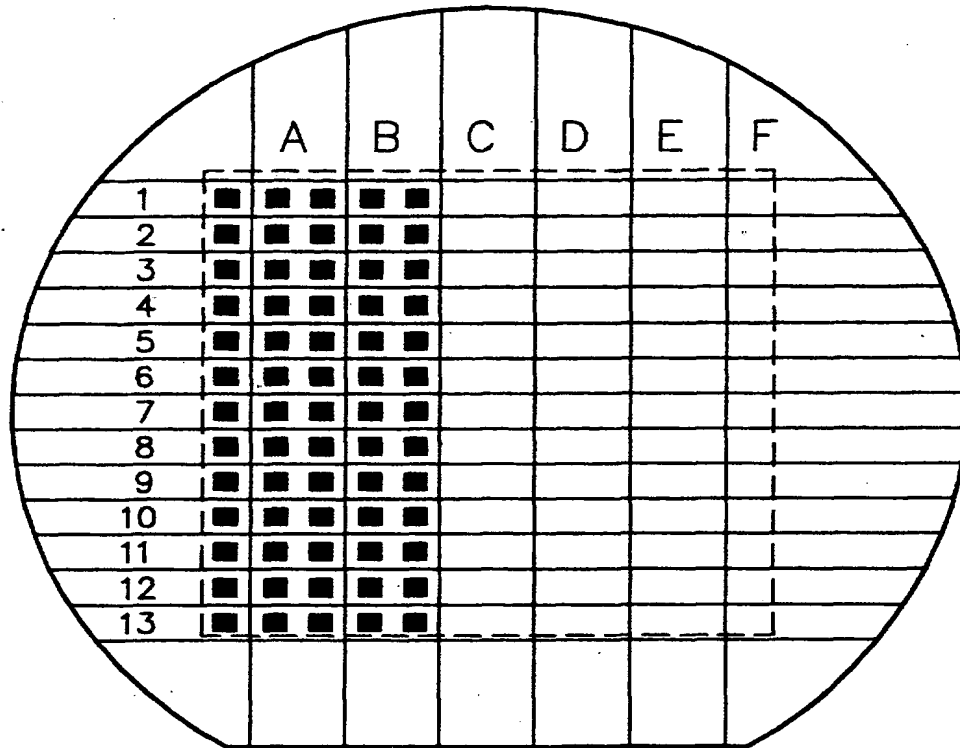


FIG.17
Stand der Technik

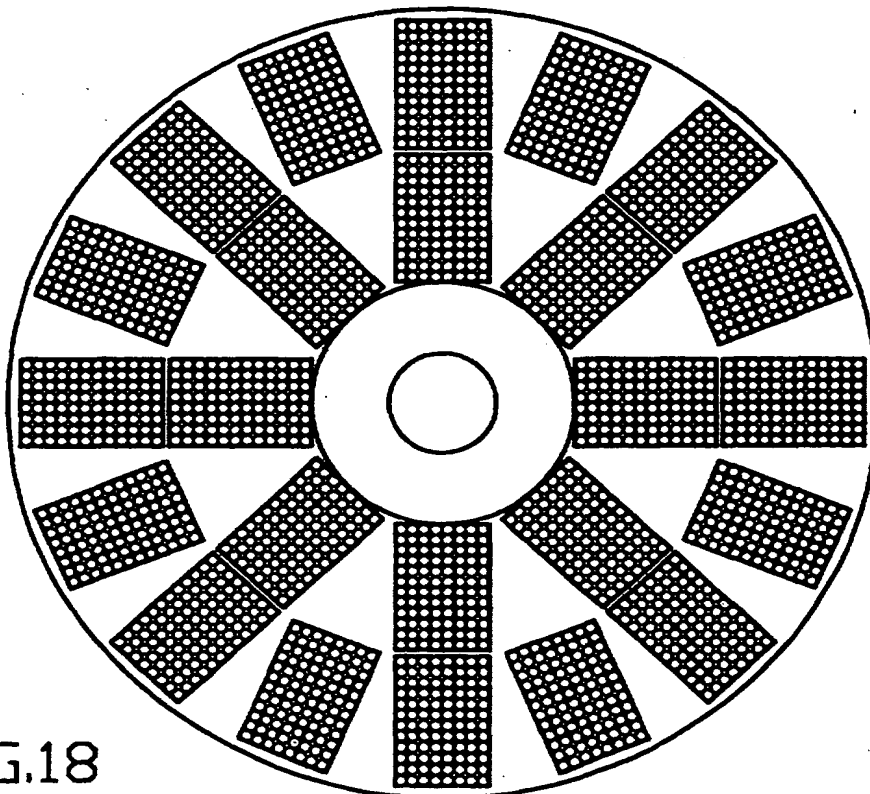


FIG.18
Stand der Technik

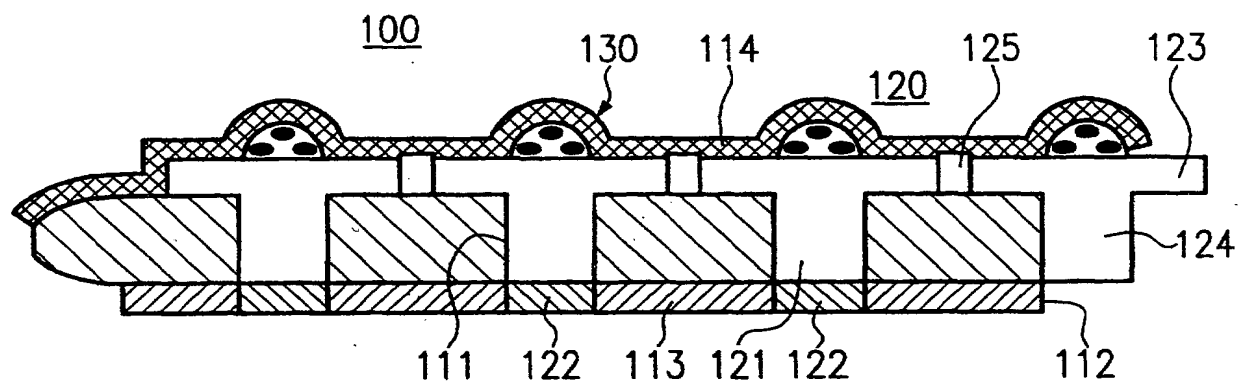


FIG.1

